「植物保護新科技研討會」專刊
臺灣省農業試驗所特刊第57號　pp. 71-86 (1996)

昆蟲抗藥性研究的回顧與展望

馬　堪　津
中央研究院動物研究所

摘要：本文簡要地介紹了自第二次世界大戰以來，殺蟲劑的研究趨勢。它包括了殺蟲劑的更替及其相關研究，即毒理機制、昆蟲抗藥性之發生及偵檢、遺傳生化與抗性演化及抗性害蟲管理的大趨勢。本文主要以桃蚜及諸害蟲之抗性機制研究為例，陳述由致死率到遺傳分子生物學的研究方向乃是實驗或理論工作之著眼處，而研究結果必須印證田間害蟲抗性基因表現之調控及抗性族群演化發生之態勢，纔能對症下藥、擬定策略、到落實田間害蟲管理工作。

關鍵詞：殺蟲劑、抗藥性、檢測、遺傳、抗性管理。

前　言

半個世紀以來，以農藥防治害蟲之效率評估，是循著三個層面進行界定，而逐步展開來的。它們是(一)農藥本身的理化，生物特性及其對環境、人畜所造成衝突的評估，(二)農藥對害蟲的致毒機制，(三)害蟲對農藥所演發的抗藥性機制。第一個層面的研究趨勢是將農藥的副作用如其殘效性、安定性、致病(癌)性，廣效性由繁雜解降為簡單，不會污染環境，但卻是專一性高而且合乎生物理化性之殺蟲劑。第二個層面的研究則是由複雜的結果中逐一找出簡單的原因；包括毒效檢定、族群生理及生化之差異性、標的器官致毒，一直到細胞分子生物學呈現之現象之檢查。第三個層面研究，亦是趨向由繁入簡地找出抗藥性的機制所在。是經由族群異質體之確認、生化遺傳因子之分析、生化及免疫生化與探針諸法用之於速測、利用分子生物技術進行抗性基因之檢定，到轉殖基因用於抗蟲。三個層面研究中，以第三者所獲資料，結果最詳實。然而在抗藥性害蟲個體抗性機制表現的調控上，和害蟲族群遺傳變異發生的演化上，仍然所知有限；加上第二個層面，如昆蟲神經及內分泌致毒研究之進展緩慢，配合不及，而導致三個研究層面產生關係脫節，致使第三個研究層面之基礎研究所獲結果無法切題地落實在田間的害蟲防治的應用上。

十年前，國內許多學者曾聚集在一起，就農藥之使用、有害生物之抗性、害蟲之再猖獗、抗性昆蟲之族群遺傳等課題作了類別的專文介紹[3]，獲得了社會正面的回響。匆匆間，十年過去。本著鑑往知來的情懷，本文在此簡單地介紹了過去五十年間殺蟲劑研究發展的沿革，其中函蓋了(一) 殺蟲劑致毒機制之探討，(二)昆蟲對殺蟲劑產生抗性不同機制之生化遺傳研究結果，(三)抗藥性的檢測及其應用於田間抗性害蟲之監測及(四)害蟲抗藥性管理到害蟲防治的考量。在技術層面上，由過去實驗室的生物檢測、生化及電生理檢測到目前生化免疫及生物技術施用於田間快速偵測的應用上也作了討論。如此，是期望能建議有關當局，及時重視延緩田間抗藥性害蟲發生之前的先期基礎科學研究工作，把傳統上僅注意致死率及劑量的檢測結果，輔以抗性遺傳演化及族

群生態諸相關研究上所得的結果，應用在控制抗藥性害蟲族群之發生上，以期能落實抗藥性害蟲田間防治的永續經營。

殺蟲劑研發背景的概況

在二次世界大戰末期，原來設計用來殺人的化學合成神經性毒殺劑，因緣際會地被使用於公共衛生害蟲的防除上，並且收到了極好的結果。從此以後一系列的化學合成的所謂第二代殺蟲劑便被廣泛地開發、研究、製造、使用，完全地取代了以植物性、礦物性爲本的第一代殺蟲劑，迄今已超過半個世紀。半世紀以前由於吾人對於殺蟲劑毒理學的檢驗要求並不周嚴，故而對農藥的選擇是以容易合成、價廉、有毒效爲認定標準。因此在50年代藥效甚佳的諸多有機氯劑及少數的有機磷劑逐漸地取代了礦物性殺蟲劑，而大行其道。雖然當時也針對合成藥劑的毒性、毒理作過探討，但因爲沒有作長期而深入地追蹤研究，而致於疏忽了它們長時期的殘毒效應[9]。至於施用殺蟲劑之後,對人、畜、野生生物、自然環境造成的衝擊，及其所留下的後遺症，一直未予以正視，直到60年代初美國的 Richard Carson 氏發表〝寂靜的春天〞一書[14]以後，方引起社會大眾的重視。而產、官、學界的負責人纔開始就濫用殺蟲劑所須付出社會成本之事，作出了認眞的檢討。

殘餘毒效(residue)、昆蟲抗藥性 (resistance) 及次級害蟲的猖獗 (resurgence) 三個主要問題同時浮出檯面[10,11,28]。隨人們對殘效性期長、生物濃度集中(bioconcentration)，危及人、畜、野生生物的有機氯劑的強力譴責，有機氯劑終告全面禁用，同時，有機汞劑、砷劑也遭到禁用。跟著，具有選擇性殺蟲特性的有機磷劑、氨基甲酸鹽劑則取而代之地用上。這些帶有酯(Ester)的化合物，易爲溫血動物之酯解酵素分解，且易於在環境中崩解而大量被開發、使用。卻也因多種昆蟲具高活性的解毒酵素或低敏感的膽鹼酯解酵素，致使害蟲產生高度的抗藥性，對害蟲防治又成爲棘手的問題[39]，而新型殺蟲劑的殷切需求勢所難免。有鑑於此，60年代的昆蟲學家極力在生理學研究的範圍內用 "以其人之道，還治其人之身"的理念，開拓出了一片生理性毒殺劑(biorational pesticide) 的毒理天地，促成了七零年代第三代殺蟲劑，也就是昆蟲生長調節劑(insect growth regulators) 的問世[60]。這些調節劑像有機磷、氨基甲酸鹽、合成除蟲菊精一般都帶有酯，也都會被昆蟲體內的解毒酵素代謝，卻因爲具有專一性，故乃能用於環境害蟲的防治。這一類的殺蟲劑是不會引起殘餘毒效及次級害蟲再猖獗的問題，然而昆蟲抗藥性的問題，隨著第三代殺蟲劑的頻繁使用，又重新浮現[17,35,56]。其原因在於吾人對殺蟲劑與標的物兩種分子之結合所引起之變化噩然無知，對兩種分子結合後所導致的生理影響也不是很清楚，一俟害蟲之抗性機制發生時，如定點突變(point mutation)，就不知到該如何應變，而使辛苦開發出來的殺蟲劑失去效用，故思考新的殺蟲劑的使用必須重視殺蟲劑致毒的專一性及分子作用的特殊性。以利於對害蟲抗性機制發生時有足夠的認知而能採取適當之應變，如改變殺蟲劑之分子結構，剋制抗性之發生。

爲了避免因害蟲抗藥性頻頻發生而導致"無藥可用"的窘境，一方面人們不斷地嚐試著去開發對害蟲致毒機制完全不同的新農藥，另一方面人們也開始檢討往日以化學防治爲上綱的蟲害防治法，而重新思考利用天敵、抗蟲育種、除草清園、改變種植方法及習慣等綜合性的蟲害防治方法(integrated pest control)，以減輕蟲害產生抗藥性的壓力，在田間慣用的防治方法也由撲滅害蟲的策略調整爲害蟲管理(integrated pest management) 的策略[51]。人們對農藥的使用比以往更注意其時效性，將農藥當作一個防治策略的手段，而非終一的目標。70年代之後，改良後的合成除蟲菊

精、細菌毒素 (bacterial toxin)、多角體病毒(polyhedron virus toxin)、微生物毒素(avermectin) 等都被昆蟲學家或藥理學家開發爲生理性殺蟲劑，而昆蟲費洛蒙(insect pheromone) 的研究也吸引了昆蟲生理學家的興趣，從而競相投入研究。

人類發明了抗生素(antibiotics) 防治了許多可怕的細菌性傳染病，也發明了合成農藥撲滅了許多農業及衛生害蟲，然而就像細菌會對一代又一代的抗生素產生抗性，同樣地，昆蟲對一代又一代的殺蟲劑也一再表現出頑強的抗藥性，就人類開發出來的細菌抗生素而言，已是第六代了，昆蟲毒殺劑到底又能開發出幾代? 抗生素的研發是循著一定的步驟展開的，殺蟲劑的開發是不是也可以循著同樣的方法展開呢? 這兒，我們先檢視一下，過去五十年來，吾人對殺蟲劑本身、致毒性及害蟲抗藥性三個層面的研究曾經獲得了多少的認知，在不同層次的研究結果上，有多少認知是可以相輔相成，實驗室內所獲得的知識如何轉化爲田間實施之功，理論上的探討怎麼在執行時落實爲用?

殺蟲劑致毒機制的簡介

所謂第二代的合成有機毒殺劑可分爲五類[36]：1.有機磷劑(如大淨農、馬拉松)。2.氨基甲酸鹽劑 (如加保利、好年冬)。3.滴滴梯(DDT)及大克蟎。4.環二烯(如飛佈達、地特靈)。5.合成除蟲菊精(如百滅靈、芬化利)。都會對神經系統造成毒害。前兩類會干擾神經聯會間傳遞的乙醯膽鹼酯的正常代謝。環二烯作用於GABA接受器所及之氯離子通道，會促進乙醯膽鹼酯之釋放而干擾到神經傳導。滴滴梯及合成除蟲菊精會作用於神經細胞膜上的鈉離子通道之開合[50]。基本上，它們的致毒機制，就神經生物學及分子生物學層次的了解，尙在作深一層的探究中。

第三代殺蟲劑是所謂的生理性殺蟲劑，其中主要包括了生長調節劑類似物，而以類青春激素(juvenoids)及幾丁質抑制劑 (chitin synthetase inhibitors)爲主[18]，也包括了抗青春激素化合物(anti-juvenile hormones)，和其它對昆蟲生長有干擾的化合物。這些昆蟲生長調節劑之致毒機制簡述如下：類青春激素能阻礙昆蟲的變態、生殖及胚胎發育。幾丁質抑制劑能阻礙昆蟲新表皮之生成，而抗青春激素化合物則可致咽喉側腺細胞死亡，達到催化幼蟲早熟而致死[54]。除了昆蟲生長調節劑之外，具有生理性殺蟲劑特性的微生物製劑，被研究開發的有蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*)所產生的毒素(δ -endotoxin)爲著。其致毒機制在於毒素蛋白鏈在昆蟲腸壁細胞形成一通道，使鉀、鈉、胺離子能自由出入，使腸壁細胞中負責吸收的微管毀損，導致細胞崩析(cell lysis)。其他如昆蟲桿狀病毒 (insect baculovirus) 中之核多角體桿狀病毒 (nuclear polyhedrolysis virus) 、昆蟲寄生眞菌(entomopathogenic fungi) 之白、黑、綠疆菌也都實際上用於田間害蟲防治，但致毒機制尙待研究中。上述三種生物製劑，雖然前景看好，且已有外用製成藥劑，直接噴灑施用；也有內用，如將桿狀菌毒素轉植於植物體內，以行抗蟲之實。因爲上述諸殺蟲機制涉及大分子(macromolecule) 的病理作用(pathology)，不概括於本文所言及的合成殺蟲劑的範圍內，故在本文不作敘述。第三代殺蟲劑異於第二代者，就田間效應而言有二：1.是差別在於害蟲致死的快慢，2.是前者不會危及天敵的生存，比較上來說，前者較有利於綜合防治管理的實施，且對環境、人、畜無害，應是較佳的選擇[43]。

以上所述是涉及殺蟲劑對昆蟲在生理生化上所呈現的致毒機制。另一個更基礎的致毒機制的研究層次是涉及殺蟲劑分子結構中離子或基或根與生物大分子之結合。其結合情形之穩定與否會

導致生物體表現在生理生化上的致毒輕重。吾人希望以殺蟲劑的化學結構及其相應的物理化學性質，來推論殺蟲劑其生物致毒性的分析方法。這個方法簡稱爲 QSAR 分析法(quantitative structure activity relationship)。QSAR 法的理論根據就是依殺蟲劑主要致毒特性，包括化學反應能力、穿透力、移轉能力及作用於標的蛋白質的能力而予以定量[6,36]。QSAR 分析法，以Hansch-Fujita的多參數法如電子效應參數、立體參數及分配參數三個理化參數來定殺蟲劑之藥效。如在同一系列的殺蟲劑化合物，改變取代基 (substitute group) 時，往往能作出較正確的預測。例如在有機磷劑對乙醯膽鹼酯酵素作用中，兩者的離與合各有一反應常數，兩常數之比率，即離除以合就是解離常數(Kd)。兩分子合後生成之物，進一步形成酵素乙醯化的反應常數(Kp)，後者與前者兩個常數的比值 (Kp/Kd)，是整個雙分子抑制常數(Ki)。解離常數(Kd)是測量有機磷殺蟲劑與酵素的結合能力，應該與其結構的分子有關。馬拉松的磷原子之正電荷密度爲0.204 ，對氧馬拉松爲0.452，特普(vapotone: TEPP)是0.434。這些電荷密度表現出農藥與酵素結合力，即毒性，是特普大於對氧馬拉，更大於馬拉松。此例說明了殺蟲劑的抑制機制是由於一個親核中心，在作用部份被親電子的磷原子所攻擊，解離一個脫離基(leaving group) 而使酵素被乙醯化。同樣類型的有機磷殺蟲劑及安基甲酸鹽劑的致毒性皆可以依此類推，即是用增加正電荷密度於磷或碳原子上，達到增加這兩類殺蟲劑的致毒性[6]。

另一個例子，DDT 及其類似物的分子其立體結構能否與受體(在神經細胞膜上)空間配合爲主要致毒機制。DDT 以其楔形基部吸附到神經細胞軸膜的蛋白部份，其頂端則打開鈉離子通道，干擾神經軸的傳導。此涉及了反應分子的立體參數。QSAR分析法，以 Hansch-Fujita二氏法應用廣泛，它提供了一個新方法來預測新化合物的取代效應，估算殺蟲劑致毒性的主要作用是否繫於化學反應能力，或其它參數，是未來探究新殺蟲劑分子結構應如何架構之最有效途徑。此分析法可以省略以往漫無章法大量篩選化合物所造成的經費與時間的浪費。利用量子化學著手來研發農藥，將爲下一世紀開發殺蟲劑的研究走向[6,36]。

昆蟲抗藥性機制的簡介

昆蟲抗藥機制(resistance mechanism) 的研究是害蟲防治應用的基礎，也是對藥劑防治失效前預先所作"知其然"的評估，爲的是消極地延續吾人開發出來的殺蟲劑的使用壽命，以避免農藥無處不在，而抗性也無處不在的情形發生。昆蟲抗藥性機制可略分爲二類，即：行爲性的及生理性的抗性機制。前者研究昆蟲如何在不接觸到殺蟲劑之前，就能偵測到殺蟲劑的存在而逃離。此機制，可以想見是與昆蟲嗅覺或化學接受神經系統之作用有關，目前尚不明瞭。昆蟲生理抗性機制的研究範圍主要包括：1. 藥劑穿透表皮的延緩，2.代謝殺蟲劑功能之增強，3.作用標的或神經對藥劑敏感性之降低及4.殺蟲劑的被吸附。依照 Mullin及Scott 二氏[36]歸納 Carino 及 Feyereisen 就近年來有關昆蟲抗藥性在分子生物層次研究所得，界定了分子生物學的抗藥性機制概括於三個主要項目之下。它們是1.結構基因之改變、2. 基因重覆之表現及3. 基因表現之改變，而與一個調節基因控制所有解毒酵素之結構基因之假說[44]，無明確的關聯。以下僅就三類昆蟲生理抗藥性機制作概略地介紹。

穿透及吸附：殺蟲劑穿透表皮的減緩及殺蟲劑在進入蟲體後的被吸附，多與殺蟲劑本身的非極性有關。前項因子如單獨存在，其所扮演的抗藥性角色即不大，如果穿透因子同時與其他代謝

性抗性因子或不敏感性因子並存時，則有強化抗性機制之表現[34]。吸附因子，或與許多高等動物血液中具非極性特性之蛋白質分子之胜肽鍵，能強力結合外來同爲非極性之分子，而產生稀釋農藥的作用而減少了致毒的可能性。有關這方面的昆蟲之分子機制上的資料，尙待查證。

代謝功能之增強：分解油溶性的殺蟲劑成爲親水性或水溶性高而可排遺於體外的代謝機制是解毒的重要過程。參與解毒的酵素主要有單氧酵素、轉基酵素及酯解酵素，已知的資料顯示抗藥性家蠅或果蠅單氧酵素活性高[29,53]，與抗性直接相關，它涉及家蠅第二條染色體上或果蠅第三條染色體上該酵素調節基因 (regulatory gene) 的改變。在刺吸式口器的昆蟲，如桃蚜及一種熱帶家蚊，則涉及了相關酯解酵素第四號及B1相應的去氧核醣核酸 (DNA) 的複製(amplification) 。這兩種一爲結構基因之增多，一爲調節基因之適應而使酵素之增多，致使昆蟲抗性增强，導致藥劑防治失色。麥胱甘肽轉基酵素爲昆蟲體內重要的分解有機磷殺蟲劑的酵素。抗性家蠅的轉基酵素活性之增強涉及了增生的 (amplified) 去氧核醣核酸序列(DNA-sequence)，這種現像尙未見於感性家蠅[32]。轉基酵素可以被誘發，誘發之轉基酵素較嗜與3,4- Dicholoro-nitrobenzene (DCNB) 形成共軛產物，而少與 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)相作用。抗性家蠅誘發之轉基酵素也較嗜與大淨農的O-去烷基行成共軛[62]。具有抗乙基或甲基巴拉松及對氧巴拉松之小菜蛾族群上也發現，其嗜與DCNB 作用的同功異構酵素，在感性小菜蛾上則不多見[30] 。

敏感性之降低：依殺蟲劑作用機制之不同，又可分爲五類:1.由DDT及類除蟲菊對鈉離子通道之影響所致之擊倒作用(knockdown effect)，在抗藥性的家蠅身上發現是由於相關的結構基因起了改變而致使對殺蟲劑不敏感。2.昆蟲乙醯膽鹼酯解酵素對有機磷劑及安基甲酸鹽劑的不敏感，也是因爲結構基因改變的緣故。3.昆蟲神經脈衝之抑制性傳遞物質GABA 接受器對環二烯之不敏感，也可能是由於同樣的原因所致。4.青春激素及細菌性毒素的接受器對青春激素或毒素之反應不敏感情況，也可能是緣於同一原因。目前尙待進一步的證實[36]。

昆蟲抗藥性機制的檢定

不論是昆蟲抗藥性機制的研究，或是檢定方法之確立，基本上都是沿著分析技術及方法的改進愈趨精確。然而每一個檢定方法都有理論上與應用上不能完全符合的誤差存在，而每一種檢定方法在應用上也都有其特殊的瓶頸[12]。抗性機制的檢定可由早期致死率百分之五十之劑量(LD_{50})之檢測、協力劑試驗、放射性標記農藥在活體內之代謝分析、生物化學及電生理、免疫生物化學到近期的分子生物技術運用之檢測。此其間，反映出檢測方法愈專注、結果亦愈精確、省時，但是相對的，適用之範圍亦愈小。然而，每個步驟都有其研究的必要性，各種研究結果可以彼此相互爲用，來闡明抗性機制，而予以合理的解說。

劑量－死亡率曲線之檢定

早期在還沒有訂立標準的實驗方法之前，殺蟲劑毒效的測定，只在於取得半數致死劑量(LD_{50})，或劑量-死亡率曲線(dosage-mortality curves)等資料。不同實驗室之間所得資料因施藥方式不同 ，彼此間難以比對。在1944及1952年間 Finney氏利用機率分析法 (probit analysis)，將致死率、劑量間之關係作分析方法之界定[24]。而世界衛生組織(WHO)及世界糧農組織 (FAO)分別立下標準檢驗法以檢驗各種衛生及農業害蟲對殺蟲劑忍受性(susceptibility)的高低。劑量對數--機率曲線 (ld-p line: Log dosage-probit line) 分析法，不僅可以測出供試昆蟲的感藥的高低，更可由曲

線斜度的大小，判定昆蟲族群的同質或異質性、昆蟲族群的抗藥性因子是單因子或多因子質、抗藥性在遺傳上的顯隱性及抗性是否涉及性聯遺傳[58,59]。此法，就檢定毒效、昆蟲感受性而言，有其重要性，目前仍廣泛地被使用著。

再一方面，利用對酵素具有抑制作用 (inhibition) 的協力劑 (synergists) 作協力劑毒效檢驗 (synergistic test)，也是殺蟲劑毒理學家常用的實驗法。協力劑與殺蟲劑之併用以行劑量--機率曲線實驗，可以快速地推論出昆蟲是否基於標的不敏感抑或基於某種解毒酵素之活性昇高而導致抗藥性。目前已肯定 piperonyl butoxide (PB)能抑制單氧酵素，S.S.S-tributyl phosphorotrithioate 能抑制水解酵素；4,4'-dichloro-1-methylbenzhydrol 能抑制 DDT 轉基酵素。此外也有各種協力劑作用於不同解毒酵素之抑制也爲學界認可，但並無明確定論[36]。就最有名的單氧酵素抑制劑Pb 而言，它卻是無法對不同的 P450蛋白質表現的活性作相同程度的抑制。反過來說，單以Pb所抑制P450活性的大小來判斷害蟲體內特定單氧酵素活性之大小，也會導致以普遍性取代專一性結果的誤判[22]。

活體殺蟲劑之代謝檢定

將含特定放射性元素標記的殺蟲劑直接施於昆蟲體表，經不同時間粹取及定量、定性分析殺蟲劑及其代謝物，如配合協力劑之使用更易判定何種解毒酵素可能參與代謝。此法之缺點，則在於殺蟲劑滲透及排遺如何影響劑量之致毒，須另行設計實驗，事先進行評估，因此代謝之速率評量不易[42]。

上述的兩類檢定法是以昆蟲的活體來進行實驗 (*In vivo* study) 有一定的優缺點。下述的兩種檢驗法卻是以試管實驗 (*In vitro* study) 爲基礎。試管實驗可以補助活體實驗之不足，且相輔相成[50]。試管實驗是以用昆蟲的組織、細胞或功能蛋白質如酵素、接受器等作直接的生化或電生理檢定以判斷那種因子是主要抗性機制，其方法之應用早在60年代被肯定[57]。

生物化學反應及生物物理反應之抗藥性檢定

劑量和死亡率曲線所提供的資料是無法肯定昆蟲抗性所涉及之諸項生化抗性機制[57]，是以生物化學及生物物理反應的測定法就成爲抗性因子主要的鑑定方法。以生化法測定昆蟲抗藥性是循著兩個方面來進行。第一個項目是包括：1.測定有多少種酵素參與抗性，2.它們的生化特性如何? 這其中包括了酵素之量變多，與酵素之質變利。前者如刺吸式口器昆蟲，多屬酵素量變多而致抗性[37]，後者抗有機磷劑之家蠅酯解酵素之質變，導致酵素之量雖少但分解殺蟲劑卻更快而呈抗性[41]。第二個項目是指測定所謂標的酵素或受器 (binding site, receptor) 的質變，而導致對殺蟲劑的抑制作用不敏感。其法是以電生理法偵測神經細胞膜電位差，在受刺激後改變的大小及去極化電位緊張或鬆弛的時間來作定奪。目前所知標的不敏感的情形，一則是發生在神經突觸 (dendrite) 之間，即傳導物質乙醯膽鹼的酯解酵素 (acetylcholine esterase) 被抑制的程度會因酵素的質變而減低，造成抗藥性。二則是神經軸突(axon) 上細胞膜可能涉及擊倒因子(Kdr) 之鈉離子的結合位對於DDT或除蟲菊之敏感性減低[13,21]。或 γ -Aminobutyric acid(GABA) 受器上結合位對環二烯等有機氯劑的敏感降低。彼等抗性機制皆非協力劑所能作用到[52]。GABA受質之降低敏感度及擊倒因子變因引起抗性之偵測，必須藉電生理之法行之，除非以類似單元抗體或核酸探針之檢驗法可以落實，否則無法將它實際應用到田間速測。

就生化遺傳學的概念來說，以往的一個基因一個蛋白質的觀念多少都被認定爲事實，然而，

隨著生化、遺傳分子學的發展，現在知道一個基因座(locus)上可以有二至數個表現或不表現的相同位基因(allels)[38,40]存在，也知道不同的同功異構酵素(isozymes)所屬的基因可能在基本上並不相同，呈現了更複雜的蛋白質與基因座的關係[37,47]。故僅藉著一般性受質(general substrate)作生化反應，概括地測定解毒酵素活性的結果，往往並不能彰顯昆蟲體內眞正參與的解毒酵素之特性。在小菜蛾抗性生化的測定上，我們利用Naphthyl acetate反應，求出酯解酵素的活性。但是所測出之活性，大多與泳動得較快的異構酵素較有關，這些異構酵素卻不能分解Malaoxon，反而泳動較慢能分解Malaoxon的異構酵素，才是直接涉及抗Malathion之強弱。是以選擇出一個具有專屬代表性的受質，用以測定昆蟲體內特定解毒酵素之活性，是來日研究應注意的細節(Maa, unpublished data)。例如專家建議以Naphthyl butyrate或Methyl butyrate以取代Naphthyl acetate，用來測定桃蚜或者一種熱帶家蚊體內羰基酯水解酵素(carboxylester hydrolase)的活性[15]。

以昆蟲的麥胱甘肽－硫－轉基酵素(glutathione *S*-transferase)而言，其同功異構酵素也是形色各異，僅就秋夜盜蟲幼蟲(*Spodoptera frugiperda* Smith)的中腸和脂肪體而言，就已發現有六種同功異構酵素[61]。有些昆蟲轉基酵素會被特定的誘發劑(inducer)誘發，而抗藥性昆蟲，其體內高計量的酵素活性與專屬的訊息核醣核酸計量之昇高有關[33]，由此推知，用傳統的一般性受質如DCNB或CDNB所測出轉基酵素的活性，是否能代表昆蟲抗藥性相關而專屬的轉基酵素活性，就顯得難以論斷。就小菜蛾抗有機磷劑的研究而言，直接以有機磷劑爲受質，偵測抗藥性及感藥性族群中各轉基酵素的活性，並藉以找出有代表性的受質，如DCNB，作抗藥性族群轉基酵素活性的偵測，是較具說服力的[30]。

以分子遺傳學作單氧酵素(monooxygenase)之細胞色素P450與昆蟲抗藥性之探究而言，生化法所測昆蟲抗性品種，必與高計量P450蛋白質含量、高單氧酵素活性相關，且其吸光光譜，在抗性者也異於感性者[22,47]。在另一方面，Konno等氏卻測得所有P450活性之總和的高低並不能代表某些負有和抗性有關特殊P450之活性[32]。其實，就氧化過程之去硫作用中(磷-硫酯氧化爲磷酯)活性降低的事實而言，確證"某一類"龐雜酵素的總活性，並不能代表其中"某一種"特定酵素的活性的事實。

昆蟲乙醯膽鹼酯解酵素，對有機磷的不敏感是衆所週知的。分子生物學上的殺蟲劑抗性機制研究明顯地顯示，不同種昆蟲族群其膽鹼酯解酵素呈現彼此不同的突變。這一類介於敏感性及抗性蟲在分子層次上的突變，是無法以生理生化的方法檢測出來，而以去氧核醣核酸序列分析法進行就能檢出。目前所知，抗性者基因除了發生沉寂片段(silent site)替換之外，也發現抗性者其相應的突變是：易於起反應的Tyrosine，取代了原來不易於起反應的Phenylalanine。以同樣果蠅基因序列分析法去進行其他昆蟲乙醯膽鹼酯解酵素分析，可得到相同結果，故確知結構基因定點突變(point mutation)是昆蟲或蟎的乙醯膽鹼酯解酵素對有機磷殺蟲劑不敏感之所繫[52]。

早年由昆蟲毒理學家們所研發出來監測害蟲抗藥性的生化測定法，至目前爲止雖已行之有年，然而早在1977年就有學者指出，電泳法及離子交換管柱層析法很難用來分離生化特性非常相近的酯解酵素同功異構酵素，所以，以生化法監測解毒酵素的活性，是否就能反映出害蟲的抗藥性，尙須存疑[12]。故開發更精確的檢定法勢在必行。

免疫生化及核酸探針之檢定

由於近期分子生物學及遺傳工程技術的研發，一日千里，昆蟲抗藥性機制的研究雖然步調緩

慢，卻也逐漸由單一而簡單的劑量--死亡率曲線的傳統分析法，沿著生理生化法，往分子生物學詮釋抗藥性的分析方法上邁進，且以昆蟲解酯酵素爲抗原，製造抗體，用以快速偵檢田間族群是否攜有抗性因子的免疫生化速檢法已進行開發[19,23]，如蚜蟲及一種熱帶家蚊之羰基酯解酵素 (carboxylesterase)。這兩種昆蟲的酯解酵素彼此的抗體並不與彼此之抗原交相作用 (cross-reaction)。這表示同爲酯解酵素其抗體辨認抗原的接受情形，會因昆蟲的種類而異[49]。同樣的情形亦發生在小菜蛾幼蟲轉基酵素的第三及第四異構酵素。由此二異構酵素爲抗原所產生的抗體，除了對自己之抗原有反應外，也會對夜盜蟲抗原產生反應，但不會與雙翅目之三種昆蟲之抗原產生反應[31]。單氧酵素的抗體亦然[40]。以聚合脢鏈反應(polymerase chain reaction; PCR) 法複製對特定環二烯產生抗性的GABA接受器的相同位基因(allele)的探針來偵測害蟲族群中特定的抗性品系[55]，是核酸探針實用之一例。吾人必須就特定的抗體去偵測特定的抗原及以特定的核酸探針去偵測特定的相同位基因，是未來必須以較精確的免疫生化法或核酸探針法作爲田間抗藥性因子偵測的必然趨勢。就目前所知，傳統的毒理研究結果必須藉著近代的分子生物學技術所得的結果來作更精準的確認。而可以預見的是，快速的檢測田間害蟲族群抗藥性發生的情形，則必須要使用較以往更精準的生物科技檢驗法。導引這些新觀念、技術、方法，進入害蟲抗藥性的管理策略中，是未來防治害蟲工作上必然要走的趨勢。

抗藥性的遺傳研究

抗藥性的遺傳研究依 Georghiou 及 Taylor 二氏所言，應包括六個項目[26,27]。就抗藥性之偵檢方法而論可以依序分爲：1.當地防治害蟲的用藥背景、2.抗性基因的數目、3.抗性基因的顯隱性、4.抗性基因的發生頻率、5.害蟲抗性基因的表現能力及不同抗性基因間的交互作用、6.族群中帶抗藥性基因者其生存及繁衍之適應能力的高低。前三項多在實驗室內完成，後三項則須以實驗室所得結果，引用到田間予以應證、評估。

六個項目中的第一項是建立抗藥性基本資料檔所預先要做的，而印證的方法則是進行特定區域內不同地區各族群之害蟲抗藥性的檢測(bioassay)。如世界衛生組織之對於家蠅、蚊等衛生害蟲對DDT、BHC、馬拉松等殺蟲劑之全球性抗藥性之檢測[11]、鄭氏所作的臺灣小菜蛾族群對五種不同性質的殺蟲劑之抗性檢測皆屬最直接之基本資料[16]。這些資料可助於了解抗性族群是否存在，也可作爲瞭解抗性基因間彼此是否有交互作用之參考。

第二項研究則有賴於各種分析方法，包括生物化學、電生理、免疫生化、分子生物技術等檢測方法的利用，或以特定分子結構的農藥或協力劑進行活體或試管試驗，以推測有幾個因子(或基因)或何種抗性機制(抗性基因)參與害蟲之抗藥性。雖然吾人已知昆蟲抗藥機制多緣於單一機制(基因)，但是昆蟲的抗性機制緣於多基因的例子卻確實存在[46]。理論上，緣於單一抗性基因者，可以單雌雄配對(single female-male pairing) 循 Tsukamoto 的方法作抗性遺傳的分析試驗而得到結果[59]。由所得結果找出差別性劑量(discriminating dose)，用以施之於田間的族群，來印證是否害蟲已經產生抗藥性。多於一個抗性基因者，也可以用Tsukamoto 的方法來做分析試驗。但是答案並不像由單一抗性基因者般，如此簡單、明確。故必須以計量遺傳模式統計法(quantitative genetic model)的試驗來證明之。但是，基於多基因之計量遺傳統計分析法，是限定於田間選汰壓力不大，而強抗、弱抗基因無法釐清之狀況，始能適用的前題下。加上目前所知，主要抗性基因

如酯解酵素，因爲涉及到更繁雜的單份、雙份或多份的相同的結構基因存在的問題，尙未能適當地作進一步的列入計量遺傳統計之考量中[49]，故即使以致死百分之九十之差別性劑量施之於田間族群，也會發生評估上 的困難。即使施之於田間的族群，所得結果，僅能用爲參考，而不便定論。

第三項因子之研究則必須藉純化了且已知其抗性機制的抗性品系與感性品系，使之雜交，再與純化了的感性品系與雜交一代作反交。後代予以第一項之生物檢測及第二項之抗性機制分析以闡明抗性機制之顯隱性。也可將雜交一代者與抗性品系作反交後，作前述檢測及分析以闡明抗性基因之性聯遺傳。進行兩代以上的反交試驗或有助於了解抗性機制是單因子或多因子之事實。當然如果有諸隱性標記基因 (recessive marker gene) 爲界定昆蟲個體是否具抗性機制個體的例子則更能具說服力。反交試驗之結果本身也有助於瞭解含有抗性基因之個體在族群中是否是繁殖及生存較弱勢的個體。以小菜蛾而言,就發生社子抗性族群帶ST8b9b 者不如雜交者，而有部份抗性者其單雌雄交配後代，無法有效地繁殖 (Maa, unpublished data)。

由於涉及 Tsukamoto 分析方法的生化遺傳研究限於兩個內在因素限制--隱性標記基因及遺傳組成簡單(simple genetic component)，使得只有符合此二條件的果蠅(*Drosophila* spp.) 成爲最搶手的試驗昆蟲，更加以其幼蟲有巨大唾腺染色體之易辨，因之早期昆蟲殺蟲劑之抗性遺傳生化之研究非它莫屬。而雙翅目、同翅目昆蟲及蟎類也能因染色體數目少，被研究的多些。目前吾人所熟知的昆蟲抗性機制在分子生物學上的認知，皆因循此線索而得。除了隱性標記的使用外，目前也有人試著由電泳標記(electrophoretic marker)上，去找可用的遺傳標記。例如在一種夜盜蟲之可見標記[49]，又在小菜蛾身上的EST8b9b，可能涉及了單氧酵素及標的不敏感之乙醯膽鹼酯酵素二項因素參與的抗藥性機制(Maa, unpublished data)。

就一種熱帶家蚊而言，它對 DDT、合成除蟲菊精，類似擊倒因子的神經不敏感的抗性機制，在遺傳上均屬隱性。而它的抗有機磷、氨基甲酸鹽劑之改變型乙醯膽鹼酯解酵素、或抗環二烯的接受體改變者，兩抗性機制之遺傳表現部份爲全顯性。而大部份涉及代謝抗性之機制，皆屬顯性[49]。而鱗翅目、鞘翅目等多數農業害蟲，其染色體至少在二三十對以上[5]，以小菜蛾而言，其染色體在顯微鏡下且呈顆粒狀，且大小相差無幾[2]。因此，這些害蟲染色體之區分除了以近期發展出之脈衝電泳或能派上用場，目前還沒有更適宜的其它方法能予以有效分離，就抗性基因如何在染色體上定位 (mapping)問題如何解決就變得十分困難。是以，以單株抗體(monoclonal antibody)，及去氧核醣核酸探子－探子－聚合脢鏈反應(cDNA-probe-PCR)等生物技術(biotechniques)用以偵測及解析鱗翅目害蟲的抗性基因，似是未來必須走的路子。

第四項之研究主要是針對田間族群之抗性基因存在狀況的評估，必須在前三項資料已完全掌控的狀況下，方能順利地進行。實驗室之毒理實驗固然可找到上述三項研究所求之結果，找出適當的差別致死劑量，以之施用於田間。但是由實驗室所得，對感性或雜交個體之差別性致死劑量，在實驗室或可除去所有感性因子或抗性因子爲穩定之表現型之個體。但是，同樣的致死劑量，如果施用於田間，就不一定能達到相同的目的。主因在於田間蟲口生理時期發生並不像操作在實驗室般，那麼一致。更何況，有的實驗室對毒理、抗性研究爲取得結果的方便，犧牲了應用到田間防治的實用性，而忽略了兩種狀況的不同。如此，當然不會得到最理想的結果。而往往兩狀況下，所得結果差異性大的出乎意料[48]。是以抗性研究宜以田間耐性最強之生理時期之蟲口爲考量，否則實驗室所得結果並不適用於田間防蟲施藥之參考。針對這個問題，學者提出田間害蟲族群之

監測 (monitoring) 所用差別致死劑量，應以百分之九十致死率爲宜(45)。第四項之研究也應該試著循近代分子生物學的技術而行之，則易收監測之效。

英國人Sawicki及Devonshire二氏前後經歷了二十年的研究(19,20)，由田間找到抗藥性桃蚜、檢定其抗性機制以遺傳生化法決定七個品系抗性之强弱，更由蛋白質、而訊息核醣核酸(mRNA)、而去氧核醣核酸探子(cDNA)、到瞭解結構基因的重覆出現 (gene amplification) 所表現出來的强抗性、到去氧核醣核酸的甲基化 (methylation) ，涉及了族群之抗性消失(reversion)。此一系列井然有序的長期研究的結果，是一個數十年來令殺蟲劑毒理學家們鼓舞的實例。同樣地，一種蚊子之抗性研究也曾由基因之抗性研究落實到田野(25,37,38)。這兩個實例也證明了抗性的研究不再是天馬行空的理論。而此一實例也證實，落實理論到實用必須重視生物化學、分子遺傳及生物技術的研究，方克有成。有心人士，不應該漠視它所代表的時代意義。

第五項之研究也必須要藉著隱性之"遺傳標記"行之。以抗大滅松(dimethoate) 的丹麥家蠅爲例，它的一個抗性品系竟涉及了六個抗性基因，與感性者比較其抗性高120倍 。其中六個抗性基因中的兩個分擔抗性甚少，其抗性之呈現是在協力劑及其他殺蟲劑篩選之後，另一各在三號染色體及五號染色體者，分擔 1.5到3.8倍之抗性，其突顯是因爲曾經DDT及大淨農篩選過。剩下兩個基因都在二號染色體上，兩者分擔11到32倍抗性，其抗性突顯皆因大滅松頻頻施用所致。可以推測在實際實驗室內篩選結果多以多因子表現，在田間特定殺蟲劑之使用，會使被篩選者，即害蟲，因適應而演化出特定的抗性基因表現，且多以單因子爲主。是以實驗室內之資料，並不能硬生生的延伸到田間去使用(49)。某些狀況下，發生在田間的單因子抗性的表現，會因其他殺蟲劑之使用，而附加上其他抗性因子。如抗陶斯松 (chlorpyrifos) 的一種蚊子，先發生基因解毒之解酯酵素因子，而後又有變異之乙醯膽鹼酯解酵素及單氧酵素之參與，欲掌握此中單、雙、多因子之抗性基因之表現在田間族群抗性遺傳之研究，誠屬不易。

第六項爲有抗藥性基因者其生存及繁衍、適應能力之研究。一如第四及第五項，最好有"隱性遺傳標記"參與其中。其研究範圍不僅涉及抗性族群對生態環境之適應性之外，更涉及族群在變異、選汰、遺傳播遷 (gene drift)、基因流(gene flow) 交互作用下，所衍生的抗性基因頻率 (gene frequencies)之改變(7)。前三者是殺蟲劑未嘗使用前，最初決定相同位抗性基因(resistance alleles) 的頻率因子，而選汰及基因流兩者則是隨殺蟲劑使用後，影響抗性演化最主要的二因子。由於這一項研究涉及生態因子及遺傳因子交錯之複雜性，更加上抗性因子多爲不完全顯性(semidominant in expression) 及相同位基因的多態、多倍性。相對地，使著手釐清田間害蟲族群中懷有抗性基因者之生存、繁衍、適應能力之研究，更不易闡明。

以下是 Roush 及 Daly 二氏就殺蟲劑抗藥性演化之防治管理策略中所提議的田間施藥時慮的事項(49)。

一、當殺蟲劑使用時，減低抗性個體的適應性

1. 增加劑量以去除異質結合子(heterozygotes)或抗性之同質結合子(homozygotes)。
2. 使用只會引起低度抗藥性發生之殺蟲劑。
3. 針對生理感藥性發生期施藥。
4. 使用協力劑以抑制解毒機制。
5. 混用不同作用機制之殺蟲劑。

二、減低篩選壓力

6. 減少殺蟲劑之使用濃度，使某些感性個體在施藥情行下得以存活下來。
7. 減少施藥次數。
8. 使用殘效性短、作用快的殺蟲劑。
9. 保留部份防治區不與施藥，使用點狀處理。
10. 輪流施用不同作用機制之殺蟲劑作隔離世代之施用，但須避免混雜處理。

結　論

防治田間或居家害蟲的殺蟲劑在50年代期間，是以殺蟲劑有效與否，既致死率的高低，來作爲施用指標[8]。60年代，人們注意到了殺蟲劑引起的殘毒、抗藥性及次級害蟲的問題[9]。70年代興起了生物化學上的昆蟲抗藥性機制的熱烈討論[29,57]，促使害蟲抗性生化遺傳研究的投注[22,41]，使得農藥、抗性、遺傳間呈現出互動的學門研究。80年代殺蟲劑防治害蟲著眼點，已由單純的殺蟲致死率指標的主軸上移出，而與昆蟲抗藥性遺傳發生之研究相結合[41,46]。90年代，更以快速的生化儀器的開發結合分子生物學及遺傳工程技術的進展，將以往害蟲抗藥性機制的疑點逐一破解，抗性認知上更由傳統的個體致死率轉進到遺傳基因的複製或突變之分子遺傳生物學之層面，進而思考到了抗性族群生態遺傳的綜合探討。然而誠如所言，幾十年來抗性研究層次固然逐年提昇，但是因爲無法結合族群遺傳研究，使之應用到田間，是以無法使昆蟲抗性結果在理論層面延伸到實用的抗性族群之控制，更無法有效抑制因農藥之選汰所導致的抗性族群演化的發生，而致使實驗室的研究結果乃局限在實驗室中的窘境[1]。

邁入人類的第二十一世紀前，生物科學及技術的研究，已因分子生物學、分子遺傳學、族群生態學、神經生物學等學科的蓬勃發展而令人在殺蟲劑致毒機制及害蟲抗藥性的田間應用認知上，與以往所認知者有截然不同的衝擊感受。三、四十年前，由致死率百分之五十掛帥的農藥毒理資料[4]早已不足以主導田間用藥防治害蟲的方向。對於如何統合相關學門的專家，進行對於害蟲抗藥性的瞭解、抗性族群發生之偵檢、抗性族群演化之預防等諸實際問題如何應用於害蟲管理策略之謀求解決，不能再踟躕不前了。先進國家如美國，則早在十年前就已注意到此問題的嚴重性，召開了會議，提出了建言[8]。國內農政單位一向注意作物害蟲的藥劑防治，國內專家學者對農藥抗性的研究在國際上也有一定的地位，農藥研究更有專責的研究機構，且經費充裕、人才濟濟。我們殷切企盼能看到農政單位相關的領導人、學者、專家，在短期內再聚一堂，就未來將發生的重要害蟲抗藥性的問題，共商防治管理的大計。

謝　辭

本文的完成，要感謝本研究室的助理劉靜芬小姐的協助。也多謝本所研究員王清澄博士及寇融博士在百忙中，抽空費心的校稿、訂正。對國科會(National Science Council)在敝人所作小菜蛾抗藥性的生化遺傳專題研究上予以長期經費的補助，要致最大的感謝。對省農試所應用動物系羅主任幹成的鼓勵及植保新科技研討會籌備會的諸位學者專家的推薦，在此也要致最誠摯的謝意。

參考文獻

1. 王清澄、林飛棧。1985。有關抗藥性研究的幾個看法。pp. 71-82.農藥毒性研討會論文專集。周延鑫、林飛棧、馬堪津、王清澄 編輯。中央研究院動物所專刊。中央研究院。
2. 李聖慧。1989。小菜蛾細胞株建立之研究。碩士論文。國立中興大學。
3. 周延鑫、林飛棧、馬堪津、王清澄。1985。農藥毒性研討會論文專集。中央研究院動物所專刊。中央研究院。
4. 洪維懷。1965。臺灣植物保護工作:昆蟲篇 pp. 5-10. 劉廷蔚先生六十歲紀念文集。中華彩色印刷公司。台北。
5. 牧野佐二郎。1948。動物染色體數綜覽。北隆館。東京
6. 張宗炳。1987。殺蟲藥劑的分子毒理學。農業出版社。北京。
7. 張慧羽。1985。昆蟲抗藥性的族群遺傳。pp. 83-92.農藥毒性研討會論文專集。周延鑫、林飛棧、馬堪津、王清澄 編輯。中央研究院動物所專刊。中央研究院。
8. Anonymous 1986. Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management. National Academy Press. Washington D.C.
9. Brown, A. W. A. 1951. Insect Control by Chemicals. John Wiley and Sons Inc. New York .
10. Brown, A. W. A. 1963. Insect resistance. Farm Chemicals 126(10):21-25; (11):24-28; 127(1):58-69.
11. Brown, A. W. A., and Pal, R. 1971. Insecticide resistance in Arthropods. WHO. Genera.
12. Brown, T. M., and Brogdon, W. G. 1987. Improve detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. Ann. Rev. Entomol. 32:145-162.
13. Busvine, J. R. 1951. Mechanism of resistance to insecticide in house flies. Nature 168:193-195.
14. Carson, R. 1962. Silent Spring. Houghton-Mifflin, Lo.
15. Chamber, H. 1973. Thio-esters as substrate for insect carboxylesterases. Ann. Entomol. SOC. Am. 66: 663-65.
16. Chen, E. Y. 1981. Insectide resistance study in *Plutella xylostella* L.II a general survey (1980-81). J. Agric. Red. China 30:285-293
17. Clark, J. M., Scott, J. G., Campos, F., and Bloomquist, J. R. 1995. Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications. Ann. Rev. Entomol. 40:1-30.
18. Cohen, E. 1987. Chitin biochemistry: synthesis and inhibition. Ann. Rev. Entomol. 32:71-94.
19. Devonshire, A. L. 1989. Insecticide resistance in *Myzus persicae* : from field to gene and back again. Pestic. Sci. 26:375-382.
20. Denvonshire, A. L., and Sawicki, R. M. 1979. Insecticide-resistance *Myzus persicae* as an example of evolution by gene duplication. Nature (London) 280:140-1.
21. Farnham, A. W. 1977. Genetics of resistance of house flies (*Musca domestica* L.) to pyrethroids. I knockdown resistance. Pestic. Sci. 8:631-636.
22. Feyereisen, R., Koenes, J. F., Carino, F. A., and Daggett, A. S. 1990. Biochemistry and molecu-

lar biology of insect cytochrome 450. In H. H. Hagedorn, J. G. Hildebrand, M. G. Kidwell, and J. H. Law [eds.], Molecular Insect Science. Plenum Press. New York.

23. Field, L. M., Deveonshire, A. L., Ffrench-constant, R. H., and Ford, B. G. 1989. The combined use of immunoassay and a DNA diagnostic technique to indentify insecticide-resistant genotypes in the peach-potato aphid, *Myzus persicae.* Pestic. Biochem. Physiol. 37:174-178.

24. Finney, D. J. 1971. Probit Analysis, 3rd ed. Cambridge Unversity Press, Cambridge.

25. Georghiou, G. P., and Pasteur, N. 1950. Organophosphate resistance and esterase pattern in a natural population of the southen house mosquito from California. J. Econo. Entomol. 73:489-492.

26. Georghiou, G. P., and Taylor, C. E. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. J. Evon. Entomol. 70:319-323.

27. Georghiou, G. P., and Taylor, C. E. 1986. Factors influencing the evolution of resistance in pesticide resistance, pp. 157-169. Strategies and Tactics for Management. 1986. National Academy Press. Washington D.C.

28. Graham, F. Jr. 1970. Since Silent Spring. Greenwich, Fawett, Conn.

29. Hodgson, E. 1968. Enzymatic Oxidations of Toxicants. North Carolina State University, Raleish, N. C.

30. Kao, C. H., and Sun, C. N. 1991. In vitro degradation of some organophosphorus insecticides by susceptible and resistant Diamondback moth. Pest. Biochem. Physiol. 41:132-141.

31. Kao, L. R., Motoyama, N., and Dauterman, W. C. 1984. Studies on hydrolases in various house fly strains and there role in malathion resistance. Pestic. Biochem. Physiol. 22:86-92.

32. Konno, T., Hodgson, E., and Dauterman, W. C. 1989. Studies on methyl parathion resistance in *Heliothis virescens.* Pestic. Biochem. Physiol. 33:189-199.

33. Ku, C. C., Chiang, F. M., Hsin, C. Y., and Sun, C. N. 1994. Glutathione transferase isozymes involved in insecticide resistance of diamondback moth larvae. Pestic. Biochem. Physiol. 50: 191-197.

34. Matsumura, F. 1983. Penetration, binding and target insensitivity as causes of resistance to chlorinated hydrocarbon insecticides. pp. 367-386. In G. P. Georghiou and J. Saito [eds.], Pest resistance to pesticides. Plenum Press. New York.

35. Maa, C. J. W., and Lin, Y. M. 1985. Esterase of diamondback moth (*P. xylostella* L.) The antennal carboxylesterase of adult male with reference on male response to synthetic female sex pheromone. Bull. Inst. Zool. Academia Sinica. 24(2):165-176.

36. Mullin, C. A.,and Scott, J. G. 1992. Biomolecular basis of insecticide resistance: classification & comparison, pp. 1-23. In C. A. Mullin & J. G. Scott [eds.], Molecular Mechamisms of insecticide resistance diversity among insect. Ameri. Chem. Soc., New York.

37. Mouches, C., Pesteur, N., Berge, J. B., Hyrien, O., Raymond, M., Robert, B. de St. Vincent, Silvestri, M. de, and Georghiou, G. P. 1988. Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a california *Culex* mosquito. Science 233:778-780.

38. Mouches, C., Pesteur, N., Lemieux, L., Poplin, Y., Abadon, M., and Georghiou, G. P. 1988. Advances in molecular genetics of organophosphate-detoxifying esterase in insects, abstract, XVIII International Congress of Entomology, Vancouver, July 3-9, pp. 460.
39. O'Brien, R. D. 1966. Mode of action of insecticides. Ann. Rev. Entomol. 11: 369-402.
40. Ogita, Z., and Kasai, T. 1965. Genetic control of multiple esterase in *Musca domestica.* Jap. J. Genet. 40:1-14.
41. Oppenoorth, J., and K. van Asperen. 1960. Allelic genes in the housefly producing modified enzymes that cause organophosphate resistance. Science 132:298-299.
42. Peferoen, G. 1991. *Bacillus thuringiensis* in crop protection. Agro. Food Industry Hi-Tech 6:5-9.
43. Pickett, J. 1984. Prospects for new chemical approaches to insect control. Chemistry and Industry. pp. 657-660. Sept. 17, 1984.
44. Plapp, F. W. Jr., and Wang, T. C. 1983. Genetic origins of insecticide resistance, pp. 47-70. In G. P. Georghiou & T. Saito [eds.], Pest resistance to pesticide. Plenum Press, New York.
45. Plapp, F. W. Jr., Magaro, J. J., and Edelson, J. V. 1992. Diamondback moth in south Texas:a technique for resistance monitoring in the fild, pp. 443-454. DBM and Other Crifer Pest. AVRDC. Proceedings of the 2nd Internal. Workslop. Tainan, Taiwan.
46. Plapp, F. W. 1976. Biochemical genetics of insecticide resistance. Ann. Rev. Entomol. 21:179-197.
47. Ronis, M. J. J., Hodgson, E., and Dauterman, W. C. 1988. Characterization of multiple forms of cytochrome P-450 from an insecticide resistant strain of house fly (*Musca domestica*). Pestic. Biochem. Physiol. 32:74-90.
48. Roush, R. T., and Mckenzie, J. A. 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Ann. Rev. Entomol. 32:361-380.
49. Roush, R. T., and Daly, J. C. 1990. The role of population genetics in resistance research and management, pp. 97-154. In R. T. Roush & B. E. Tabashnik [eds.], Pesticide resistance in arthropods.Chaoman & Hall, New York.
50. Scott, J. G. 1990. Investigating mechanisms of insecticide resistance: method, strategies, and pitfalls, pp. 39-57. In R. T. Roush and B. E. Tabashnik [eds.], Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall, New York.
51. Smith, R. F., Apple, J. L., Bottrell, D. G. 1976. The origins of integrated pest management concepts for agricultural crops, pp. 1-16. In J. L. Apple & R. F. Smith [eds.], Integrated Pest Management. Plenum, New York.
52. Soderlund, D. M., and Bloomquist, J. R. 1989. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. Ann. Rev. Entomol. 34:77-96.
53. Soderlund, D. M., and Bloomquist, J. R. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance. pp. 303. In R. T. Roush and B. E. Tabashnik [eds.], Pestcide Resistance in Arthropods. Chapman & Hall. Co. N. Y & London.

54. Staal, G. B. 1986. Antijuvenile hormone agents. Ann. Rev. Entomol. 31:391-340

55. Stechin, J. C., and Ffrench-constant, R. H. 1994. Amplification of specific cyclodiene insecticide resistance alleles by the polymerase chain reaction. Pestic. Biochem. Physiol. 48:1-7.

56. Tabashnik, B. E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thringiensis* Ann. Rev. Entomol. 39: 47-80.

57. Terriere, L. C. 1979. The use of in vitro techniques to study the comparative metabolism of xenobiotics, pp. 285-320. In G. D. Paulson, D. S. Frear, and E. P. Marks [eds.], Xenobiotic metabolism: *In Vitro* Methods. Ameri. Chem. Soc. Washington D.C.

58. Tsukamoto, M. 1963. The log dosage-probit mortality curve in genetic researches of insect resistance to insecticides. Botyu-Kagaku 28(4):91-98.

59. Tsukamoto, M. 1983. Methods of genetic analysis of insecticide resistance, pp. 71-98. In G. P. Georghiou and T. Saito [eds], Pest Resistance to Pesticides. Plenum, New York.

60. William, C. M. 1967. Third generation of pesticide. Sci. Amer. 217:13-17.

61. Yu, S. J. 1996. Insect glutathione S-transferases. Zool. Studies, Academia Sinica 35: 9-19. Taipei, Taiwan, ROC.

A Brief Review on Insecticide Resistance and Perspective of Resistance Management of Insect Pest

Can-Jen William Maa
Institute of Zoology, Academia Sinica

Abstract

This article summarized the history of synthetic insecticides and the associated researches of insecticides including toxicology, biochemistry, and resistance mechanisms found in insect pests. Detection and monitor of insecticide resistance and resistance mechanisms were based on both genetic studies as well as different techniques. Major resistance mechanisms including point mutation, change of a gene or change of a regulatory gene were revealed through molecular biology techniques. Genetic studies on regulation of resistance genes in laboratory strains and in field populations were perspectively emphasized in respect of resistance management for effective control of insect pests.

Key words: insecticide, resistance, diagnosis, genetics, management.